

〔一 般 論 文〕

カルセイン含有デンプン溶液の経鼻投与後の鼻腔滞留性と  
カルセイン血中動態との関係

入江 博美<sup>a</sup>, 大竹 一男<sup>a</sup>, 前野 拓也<sup>b</sup>, 内田 昌希<sup>c</sup>, 内田 博之<sup>a</sup>,  
小林 順<sup>a</sup>, 夏目 秀視<sup>\*,a</sup>

城西大学薬学部<sup>a</sup>, 厚生中央病院薬剤部<sup>b</sup>, ロンドン大学薬学部<sup>c</sup>

Relationship between Calcein Disposition in Nasal Cavity and Blood  
Concentration after Intranasal Administration of Viscous Calcein-Loaded  
Starch Solution in Rats

HIROMI IRIE<sup>a</sup>, KAZUO OHTAKE<sup>a</sup>, TAKUYA MAENO<sup>b</sup>, MASAKI UCHIDA<sup>c</sup>, HIROYUKI UCHIDA<sup>a</sup>,  
JUN KOBAYASHI<sup>a</sup> and HIDESHI NATSUME<sup>\*,a</sup>

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University<sup>a</sup>, 1-1 Keyakidai, Sakado 350-0295, Japan,  
Department of Pharmacy, Kosei Chuo General Hospital<sup>b</sup>, 1-11-7 Mita, Meguro-ku, Tokyo 153-8581, Japan,  
Centre for Drug Delivery Research, The School of Pharmacy, University of London<sup>c</sup>, 29-39, Brundwick Square,  
London, WC1N 1AX, United Kingdom

(Received 8 November 2008; Accepted 9 January 2009)

**Summary:** The present work was to estimate pharmacokinetically calcein absorption and mucoadhesion after intranasal administration of calcein-loaded starch viscous solution in rats. Two experimentations (close and open systems) were employed based on the method of Hirai *et al.* In the closed system, viscous starch solution remained in the nasal cavity after administration, because the rat pharynx was occluded by a silicone gum in the horizontal setting. In the open system, the rat was fixed at an angle of 60° relative to the horizontal plate and viscous starch solution was able to flow away to the pharynx. With the increasing concentration of starch, the blood concentration and bioavailability of calcein obtained in the open system were made nearly equal to those obtained in the closed system. This trend was found to be associated with the apparent viscosity of the starch solution. These results suggested that a viscous starch solution (gel system) with higher viscosity adequately adhered to the nasal mucosa, resulting in resistance to the physical clearance by an inclination. However, in the closed system, blood concentration and bioavailability decreased with an increasing concentration of starch. This was most likely due to a reduction in the contact surface area of the viscous starch solution to the nasal mucosa and partially to a decrease in the release rate of calcein. For poorly absorbable drugs and drugs which need “rapid onset” of pharmacological action, a microparticulate system could be more promising than a gel system (viscous solution) to improve contact surface area and drug release.

**Keywords:** calcein; viscous calcein-loaded starch solution; gel system

は じ め に

経鼻投与後の鼻粘膜からの薬物の吸収性は他の粘膜に比べ良好であり、鼻腔は経口投与後の生物学的利用率 (BA) の低い薬物、注射しかない薬物、素早い薬効 (rapid onset) を期待したい薬物等の候補投

\* 〒 350-0295 坂戸市けやき台 1-1  
城西大学薬学部製剤学講座  
TEL & FAX: 049-271-7052  
E-mail: natsume@josai.ac.jp

与ルートになる<sup>1~4)</sup>。我々はこれまで、生理活性ペプチドやタンパク質などの高分子薬物の鼻粘膜からの吸収性を評価し、吸収促進剤の利用でBAを大幅に改善でき、鼻はこれらの薬物の有用な投与ルートであることを報告した<sup>5,6)</sup>。また、分子量200~400の一般的な低分子薬物についてもBAの改善やrapid onsetに経鼻ルートが有用であることが報告されている<sup>7~9)</sup>。これらの研究では、主にラットを用いた平井ら<sup>10)</sup>の方法により鼻腔を閉鎖した条件で、吸収方向へのクリアランス(吸収速度)のみを評価している。従って、経鼻製剤の開発において、もう一つ問題となる鼻の有効吸収部位からの除去(ムコシリアリークリアランスや構造的な物理的クリアランス)は考慮されていない。

一方、この鼻腔の有効吸収部位からの除去に対して粘膜付着性の高分子材料をマイクロスフィア<sup>11~13)</sup>やゲル状の製剤<sup>14,15)</sup>とし、滞留性を向上させ薬物の吸収性を改善する研究が多くなされてきた。これらの研究は、主に除去に対する付着効果について検討されているが、吸収方向へのクリアランスにどのような影響があるかは検討されていない。

従って、これら両クリアランスを評価できる実験系を用い、薬物の吸収に対して両クリアランスの影響を評価することは、経鼻製剤を開発していく上で極めて重要と考えられる。

そこで、ラットを用いた平井ら<sup>10)</sup>の閉鎖実験系から得られる経鼻投与後の動態パラメータと、平井らの方法を改良して、ラットを斜めに固定し、鼻腔に投与した薬液が傾斜により物理的に鼻腔から流出できるようにした開放実験系から得られる動態パラメータとを比較することで滞留性と吸収性を解析した。モデル薬物としては、適度な吸収速度の得られる分子量約600のカルセインを選択した。また、粘膜付着性物質としては、potatoおよびtapiocaの2種類のデンプンを用いた。

## 実験の部

### 1. 材料

カルセイン(MW 622.55)、デンプン(Potato, soluble)及びウレタンは、Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)より購入した。デンプン(tapioca)は日澱化学株式会社(大阪)より分与された。メンブランフィルター(Cellulose acetate, pore size

0.45  $\mu$ m)はADVANTECから購入した。その他の試薬はすべて特級品を使用した。

### 2. 実験動物

Wistar系雄性ラット(250~300 g, 8週齢)は、埼玉実験動物(埼玉)から購入し、実験に供するまで、食物と水は自由に摂取させた。ラットを用いた全ての実験は、城西大学動物実験規程ならびに、“the Guiding Principles of Laboratory Animal Care (National Institutes of Health publication #85-23)”に従って行った。

### 3. カルセイン含有デンプン粘性溶液の調製

カルセイン10 mgと各種デンプンを秤量し、pH 7.4のリン酸緩衝液(PBS)10 mL中に分散させた後、約90°Cに設定した恒温槽中で10分間攪拌した。室温まで放冷後、カルセイン含有デンプン粘性溶液(potato デンプン:1.0%, 2.5%, 5.0%, 7.5%, tapioca デンプン:0.5%, 1%, 2.5%)を得た。

### 4. 単回静脈内投与実験

Wistar系雄性ラットにウレタン生理食塩液(投与量:25 w/v%, 1 g/kg)を腹腔内投与し、麻酔した。ラットを固定板に背位固定し、経鼻投与実験と同様の生理的条件にするため気道および食道への外科的処置を施した後、左右頸静脈を露出した(5.1参照)。左頸静脈よりカルセインPBS溶液(0.1 mg/mL, 0.1 mg/kg)を投与した。投与後、ヘパリン処理した注射筒を用いて、0.2 mLずつ経時的(2, 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 180, 240分)に右頸静脈より採血した。血液サンプルは直ちに4°C, 15,000 rpmで5分間遠心分離し、血漿を得た。得られた血漿25  $\mu$ Lをマイクロチューブに入れ、pH 7.4のPBSで80倍希釈し、測定用サンプルとした。

### 5. 経鼻投与実験

#### 5.1 閉鎖系経鼻投与実験

ラットにウレタン生理食塩液(投与量:25 w/v%, 1 g/kg)を腹腔内投与し、麻酔した。ラットを固定板に背位固定し、平井ら<sup>10)</sup>の方法に準じて外科的処置を行った。まず、正中線に沿って喉を切開し、気道を露出した。気道を確保するために、気管にポリエチレンチューブ(Hibiki No. 8)を挿入した。次に、鼻腔から消化管への薬液の漏出を防ぐために先端をシリコーンゴムで塞いであるシリコーンチューブ(外径2 mm, 内径1 mm)を食道側から鼻腔側に向けて挿入した。さらに、鼻腔から口腔に抜けている

鼻腔蓋管からの薬液の漏出を防ぐために、接着剤（アロンアルファ<sup>®</sup>，東亜合成化学（株），東京）で塞いだ。このように、平井ら<sup>10)</sup>の方法は鼻腔内に投与した薬液が貯留する閉鎖系となる（Fig. 1a）。

カルセイン PBS 溶液または各種カルセイン含有デンプン粘性溶液（1.0 mg/mL, 0.2 mg/kg）を，ポリエチレンチューブを連結したマイクロシリンジに採取した。ポリエチレンチューブの先端を右鼻腔内へ挿入した。注入部位は鼻の先端から 8 mm とした。投与後，ヘパリン処理した注射筒を用いて，0.2 mL ずつ経時的（0, 5, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 分）に右頸静脈より採血した。血液サンプルは直ちに 4°C, 15,000 rpm で 5 分間遠心分離し，血漿を得た。得られた血漿 100  $\mu$ L をマイクロチューブに入れ，pH 7.4 の PBS で 20 倍希釈し，測定用サンプルとした。

## 5.2 開放系経鼻投与実験

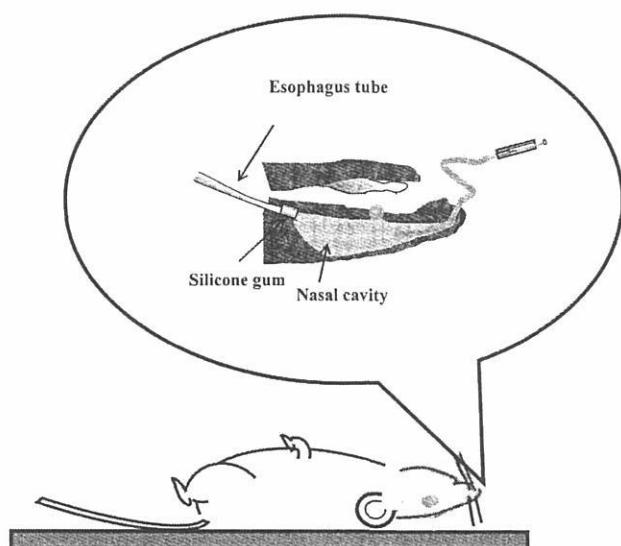
5.1 と同様にラットを麻酔した後，背位固定した。閉鎖系と同様の外科的手術を施し，鼻腔蓋管を塞いだ。投与した薬液が食道側に流出できるようにシリコーンゴムがつまっていないシリコーンチューブを食道側から挿入した。チューブの下端は体外に露出した。その後，カルセイン PBS 溶液または各種カルセイン含有デンプン粘性溶液（1.0 mg/mL, 0.2

mg/kg）を鼻腔内へ投与した。投与後，直ちに Fig. 1b に示すように固定板を 30°，ラットの頭部を 30° に傾斜させた。ラットの鼻腔最深部の嗅神経領域はデポット状になっており，薬液が貯留しやすい。予備検討から，この部分から薬液が食道側へスムーズに流出させるためには 60° の傾斜が必要であった。しかし，ラットの体を 60° 傾斜させると固定板から下方へずれ，また頸静脈からの採血も難しかったため，上述のようにラットを固定した。投与後，閉鎖系経鼻投与実験と同様の時間間隔で採血し，測定用サンプルを調製した。

## 6. 上皮粘膜に各種粘性溶液を滴下したときの接触面積の測定

鼻腔内に各製剤を投与したとき，各種製剤と鼻粘膜間の接触表面積が異なり，その結果吸収速度が異なることが予想された。そこで，各製剤を粘膜に滴下したときの表面積を測定することとした。しかし，ラットの鼻粘膜部位は非常に面積が小さく，かつきれいに剥がすことが難しかったので鼻粘膜と同様に上皮単層膜である小腸粘膜を用いた。ラットを炭素ガス実験動物安楽死装置（KN-750-，夏目製作所，東京）に入れ，徐々に二酸化炭素濃度を増加させ安楽死させた。腹部を除毛後開腹した。小腸を取り出し，長径約 1.5 cm ずつに輪切りにした。手術用

a) close system



b) open system

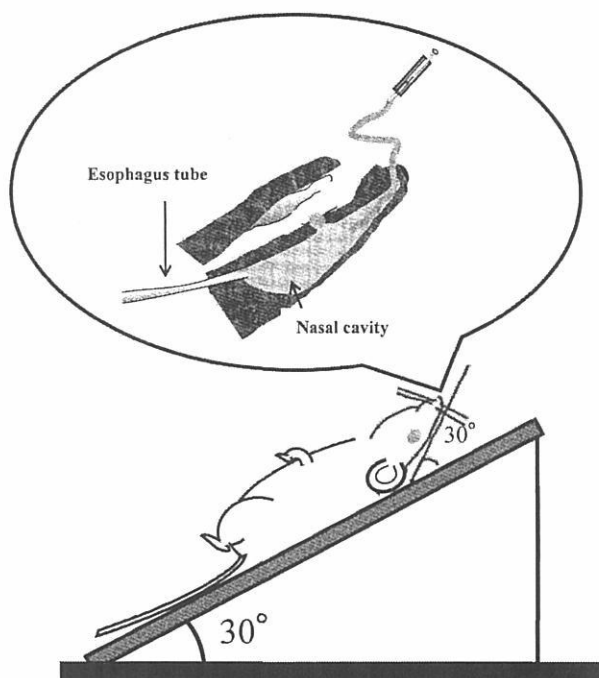


Fig. 1. Experimental Set up in Close (a) and Open (b) Systems.

はさみを用いて、小腸を縦方向に切開した。広げた小腸の内側を3回リンゲル液で洗浄した。小腸は鼻粘膜とは異なり、ひだ状構造を取り凹凸がある。そこで、小腸片を方眼紙の上に置き、可能な限り引っ張り、四方をピンでとめた。マイクロシリンジを用いて、カルセインPBS溶液または各種カルセイン含有デンプン粘性溶液を10  $\mu$ L滴下した。滴下した溶液の広がりストップする適当な時間に接触面積を算出した。接触面積を、MCID イメージングシステム (Imaging Research, St. Catharines, ON, Canada) により算出した。

#### 7. カルセイン含有デンプン粘性溶液からのカルセインの放出

Franz 型拡散セル (有効面積 3.14 cm<sup>2</sup>, レシーバー容量 18 mL) を放出実験に使用した。ドナーチャンバーとレシーバーチャンバーの間にメンブランフィルター (Cellulose acetate, pore size 0.45  $\mu$ m) を挟み、レシーバーチャンバー内に pH 7.4 の PBS 18 mL を加えた。拡散セルは、恒温槽中の水を循環させ、セル内を 37°C に維持した。ドナーチャンバー内に、カルセインPBS溶液または各種カルセイン含有デンプン粘性溶液 (1.0 mg/mL) をそれぞれ 2 mL 加え、放出実験を開始した。シンク条件を保つため、試験開始から6時間まで経時的にレシーバー側から 16 mL を採取し、その都度同量の pH 7.4 の PBS を添加した。サンプル 20  $\mu$ L をマイクロチューブに入れ、pH 7.4 の PBS により 100 倍希釈した。希釈したサンプルから 20  $\mu$ L を取り、pH 7.4 の PBS によりさらに 100 倍に希釈したものを測定用サンプルとした。

#### 8. カルセイン含有デンプン粘性溶液のみかけの粘度の測定

カルセイン含有デンプン粘性溶液は、非ニュートン流動を示したので、みかけの粘度を求めた。粘度の測定には、単一円筒型粘度計 (LV model, BROOKFIELD 社, MA, USA) を用いた。適量のサンプルを 37°C に維持された外筒に入れ、適当なずり速度で各溶液の粘度 (mPa·s) を得た。ずり速度の増加に対し、ずり応力がほとんど変化しなくなったときの粘度を、その粘性溶液のみかけの粘度とした。用いることが可能なずり速度 (sec<sup>-1</sup>) は、0.37, 0.73, 1.83, 3.67, 7.34, 14.68, 36.69 および 73.38 であった。今回調製したデンプン粘性溶液

の中で、7.5% potato デンプンと 2.5% tapioca デンプンは、このずり速度範囲で、みかけの粘度を決定することができなかった。

#### 9. 定量方法

各実験で得られたサンプル中のカルセイン濃度を、励起波長 495 nm, 蛍光波長 515 nm で蛍光分光光度計 (RF-1500, 島津製作所) により定量した。

#### 10. データ解析

##### 10.1 血漿データの解析

得られた血漿データを、非線形最小 2 乗法プログラム (アルゴリズム; Damping Gauss-Newton 法) により解析した。最高血漿中濃度 ( $C_{max}$ ) および最高血漿中濃度到達時間 ( $T_{max}$ ) は、血漿中濃度-時間曲線から求めた。血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) は台形公式で求めた。MRT, MAT はモーメント解析より算出した。吸収速度定数  $k_a$  は、MRT と静注実験から得た消失速度定数  $k_{el}$  より算出した。絶対的バイオアベイラビリティ (F) は、式 (1) より求めた。

$$F = (AUC_{in, 0-360} / D_{in} / AUC_{iv, \infty} / D_{iv}) \times 100 \quad (1)$$

ここで、 $AUC_{in, 0-360}$  は、経鼻投与後 360 分までの AUC,  $AUC_{iv, \infty}$  は静注後  $\infty$  時間までの AUC である。 $D_{in}$  および  $D_{iv}$  は、それぞれ経鼻投与時および静注時の投与量である。

カルセイン含有デンプン粘性溶液を経鼻投与したときの相対的滞留率 (Fr) は、式 (2) より求めた。

$$Fr = (F_o / F_c) 100 \quad (2)$$

ここで、 $F_o$  および  $F_c$  は、それぞれ開放系経鼻投与実験から得られた各粘性溶液からの F および閉鎖系経鼻投与実験から得られた各粘性溶液からの F である。

##### 10.2 放出データの解析

放出データは、ほぼ 1 次速度式に従ったので、残余法により、横軸に時間を、縦軸に製剤中に残存するカルセイン量の対数を取り、その傾きから 1 次放出速度定数  $k_1$  を求めた。

#### 11. 統計解析

統計解析には StatMate III for Windows (3.14) を用いた。データを一元配置の ANOVA で解析し、平均値の差を Tukey-Kramer の多重比較検定で解析した。 $p < 0.05$  を有意と判定した。

## 結果と考察

鼻の有効粘膜部位からの薬物の吸収クリアランスの改善と製剤の付着性の改善は、経鼻製剤を開発していく上で極めて重要である<sup>2)</sup>。これまで、薬物の吸収クリアランスに対するパラメータの算出は、吸収方向以外の要因を削除するために単純な薬物水溶液を用い、平井ら<sup>10)</sup>の閉鎖系による実験系から求めるのが一般的であった。この方法は、吸収促進剤の評価にも用いられている<sup>16)</sup>。一方、製剤の有効粘膜部位からの除去の評価は、一般にそれを回避するための方法、すなわち粘膜付着性に関して行われる。なぜなら、ヒトにおいて溶液タイプの経鼻製剤は、ムコシリアリークリアランスや鼻腔の構造的な物理的クリアランスにより、鼻腔から分単位で除去されるからである。しかしながら、前臨床の段階で製剤の付着性の評価は重要であるのにも関わらず、小動物を用いた実験系ではほとんど評価されていない。これは、麻酔によりムコシリアリークリアランスが停止することや、無麻酔下では、くしゃみをする等、一定条件にすることが困難なためである。これらの条件を満たす動物実験系として、羊が推奨されている<sup>17,18)</sup>。しかし、日本において、羊の使用は難しい状況にある。

そこで本研究ではラットを用い、平井ら<sup>10)</sup>の方法

による閉鎖実験系と改良した開放実験系から、モデル粘膜付着性材料として、アミロペクチン含量の異なる2種のデンプンを用いてカルセイン含有デンプン粘性溶液を調製し、これらを鼻腔に投与したときに得られる動態学的パラメータを比較することで、カルセインの吸収に対する粘性溶液の効果を評価した。

Fig. 2 および Fig. 3 に閉鎖系並びに開放系における種々濃度の potato デンプンおよび tapioca デンプン粘性溶液を鼻腔内に投与したときのカルセインの血中濃度推移を、Table 1 に薬動学的パラメータ並びに各粘性溶液のみかけの粘度 (mPa・s) を示す。開放系において、カルセイン PBS 溶液 (control) を投与したときの血中濃度は、閉鎖系で得られたそれに比べ著しく低下した。相対的な付着・滞留を現わす生物学的利用率の比である Fo/Fc は、約 38% となり、PBS 溶液では、鼻腔から素早く除去されることがわかった。一方、デンプン粘性溶液では、いずれのデンプンにおいても開放系におけるカルセインの血中濃度は、デンプンの添加濃度の増加、すなわち粘度の増加と共に閉鎖系のそれに近づいた。結果的に得られた Fo/Fc は、デンプンの添加濃度に依存して上昇した。これらの結果は、デンプンの粘度が増加すると鼻粘膜に対する付着効果が高まり、除去クリアランスに対する抵抗が増して、粘性溶液製剤

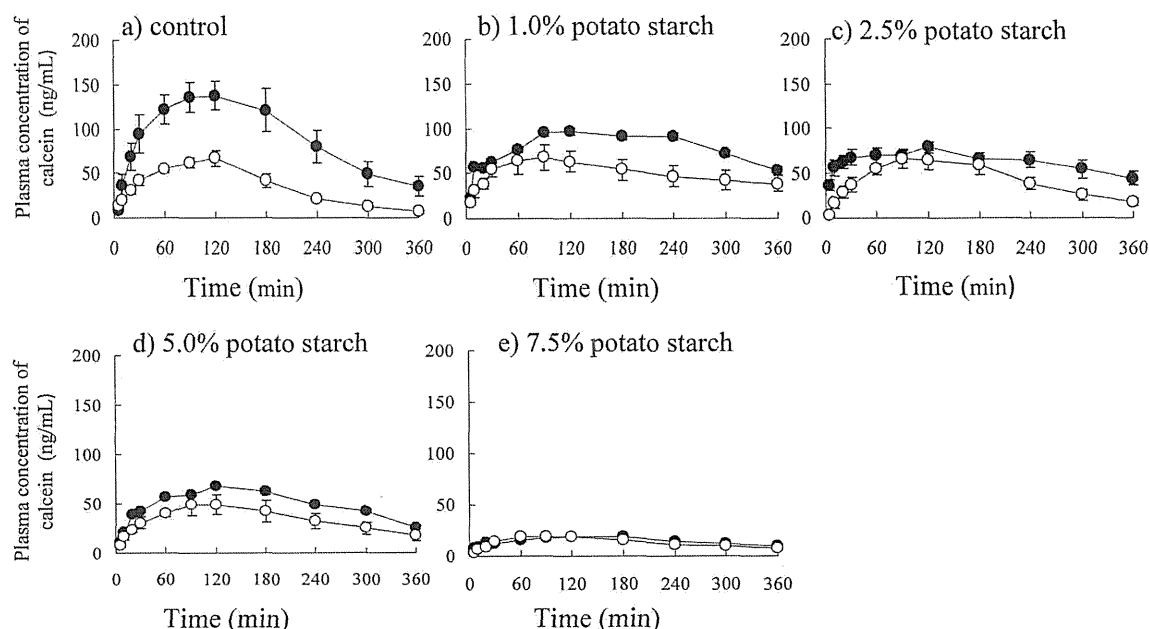


Fig. 2. Comparison of Calcein Plasma Concentration in Each Potato Starch Solution Administered in Close and Open Systems in Rats.

●: Closed system, ○: Open system. The data represent the mean  $\pm$  S.E. ( $n = 3 - 6$ ).

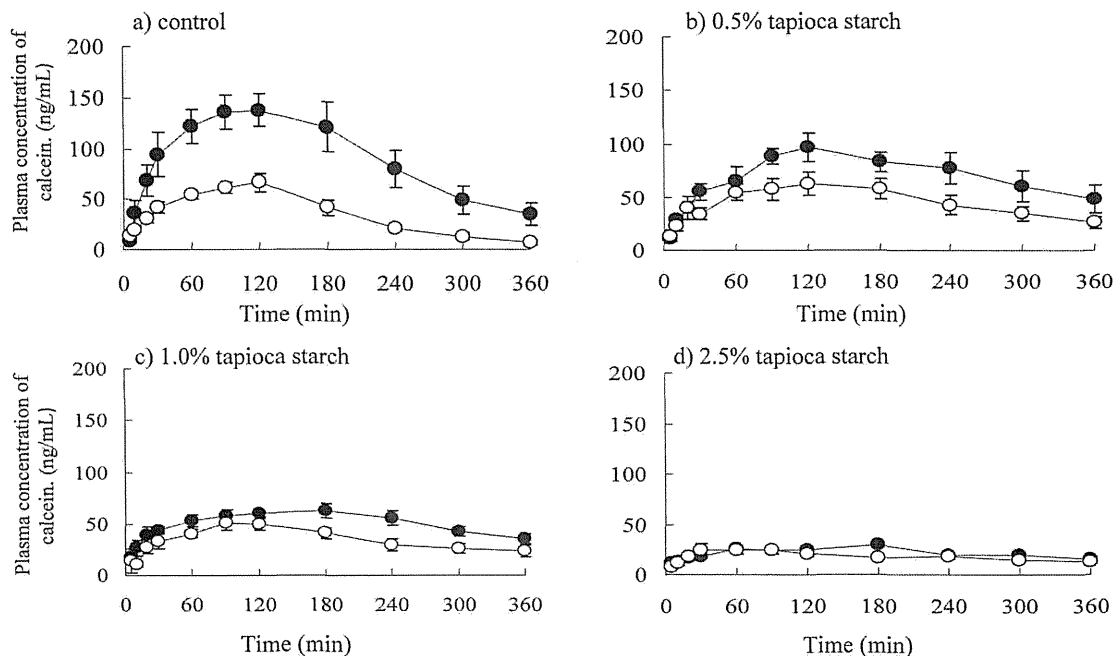


Fig. 3. Comparison of Calcein Plasma Concentration in Each Tapioca Starch Solution Administered in Close and Open Systems in Rats.  
●: Closed system, ○: Open system. The data represent the mean  $\pm$  S.E. ( $n = 3 - 6$ ).

の滞留性が高まることを示している。

Potato デンプンと tapioca デンプンを比較した場合、デンプンの添加濃度の低いタピオカデンプンの方が添加濃度が低くても滞留効果が高くなる傾向が認められた。これは tapioca デンプンの方がアミロペクチン含量が高く、添加濃度が低くても粘度が高くなることに起因していると考えられた。

以上、いずれのデンプン粘性溶液も粘度の増加で付着・滞留効果が増加することがわかった。しかしながら、閉鎖系において、カルセイン PBS 溶液を鼻腔に投与したときに得られた生物学的利用率  $F_c$  よりもデンプン粘性溶液を投与したときの  $F_c$  は大きく異なった (Table 1)。閉鎖系において、いずれのデンプン粘性溶液とも添加濃度 (粘度の増加) に依存して、 $C_{max}$  および AUC は減少し、結果的に  $F_c$  も減少した。この結果は、デンプンを用いた場合、添加濃度を上げて付着・滞留効果を増大させると、吸収が低下することを示している。

閉鎖実験系の場合、カルセイン含有デンプン粘性溶液は鼻腔内から流出することはない。従って、カルセインの吸収クリアランスに関連する動態学的パラメータは、今回調製した製剤間でほとんど変化しないことが予想された。しかし、先述のようにデンプン濃度依存的なカルセインの吸収の低下がみられ

た。その要因として、2つの理由が考えられる。1つは、粘度の増加 (流動性の低下) に伴う粘性溶液からのカルセインの放出速度の低下と、もう一つは、粘度の増加 (流動性の低下) に伴う粘性溶液の鼻粘膜への接触面積の低下である。どちらの場合も、吸収速度が低下し、結果的に  $F$  に影響すると考えられる。そこで両要因についてさらに検討を加えた。

Fig. 4a, b に、potato デンプンおよび tapioca デンプン粘性溶液からのカルセインの放出プロファイルを示す。デンプン粘性溶液からのカルセインの放出は、カルセイン PBS 溶液からのそれと比較して遅くなった。また、いずれのデンプンにおいてもカルセインの放出速度はデンプンの添加濃度に依存した。

Fig. 5a, b にカルセインの AUC と放出速度定数 ( $k_1$ ) 及び AUC と接触面積との関係を示す。図から明らかなように、 $k_1$  と AUC との間には明らかな関係は認められなかった。これに対し、接触面積と AUC には正の相関が認められた ( $r^2 = 0.9202$ ,  $p < 0.002$ )。

以上の結果より、閉鎖系実験にも関わらず、カルセインの吸収性が低下したのは、主に、デンプン粘性溶液の粘度の増加 (流動性の低下) により、粘性

TABLE 1. Pharmacokinetic Parameters of Calcein after i.v. and i.n. Administration of Different Calcein Solutions in Close and Open Systems in Rats and Apparent Viscosity.

	Dose ( $\mu\text{g/kg}$ )	$C_{\text{max}}$ ( $\text{ng/mL}$ )	$T_{\text{max}}$ (min)	$\text{AUC}_{0-360}$ ( $\text{ng} \cdot \text{min/mL}$ )	Fc (%)	Fo (%)	Fr (%)	apparent viscosity ( $\text{mPa} \cdot \text{s}$ )
i.v.	100	—	—	$2.68 \times 10^4 \pm 0.01 \times 10^4$	—	—	—	—
a) pH 7.4 PBS soln. (control)								
close system	200	$137.7 \pm 19.0$	120	$3.28 \times 10^4 \pm 0.52 \times 10^4$	61.2	—	—	1.0
open system	200	$66.6 \pm 8.8$	120	$1.25 \times 10^4 \pm 0.15 \times 10^4$	—	23.4	38.2	—
b) Potato starch								
close system								
1.0% potato starch	200	$96.5 \pm 10.0$	120	$2.85 \times 10^4 \pm 0.22 \times 10^4$	53.2	—	—	1.5
2.5% potato starch	200	$89.7 \pm 10.1$	120	$2.32 \times 10^4 \pm 0.22 \times 10^4$	43.3	—	—	2.6
5.0% potato starch	200	$79.1 \pm 2.0$	180	$1.79 \times 10^4 \pm 0.09 \times 10^4$ *	33.5	—	—	9.4
7.5% potato starch	200	$19.3 \pm 1.3$	180	$0.53 \times 10^4 \pm 0.01 \times 10^4$ *	9.9	—	—	over 100
open system								
1.0% potato starch	200	$67.5 \pm 13.0$	90	$1.83 \times 10^4 \pm 0.36 \times 10^4$	—	34.2	64.4	—
2.5% potato starch	200	$65.2 \pm 10.0$	90	$1.56 \times 10^4 \pm 0.25 \times 10^4$	—	29.2	67.3	—
5.0% potato starch	200	$48.9 \pm 9.8$	120	$1.34 \times 10^4 \pm 0.13 \times 10^4$	—	25.1	75.0	—
7.5% potato starch	200	$19.2 \pm 2.1$	120	$0.45 \times 10^4 \pm 0.02 \times 10^4$ *	—	8.3	84.3	—
c) Tapioca starch								
close system								
0.5% tapioca starch	200	$94.9 \pm 9.60$	180	$2.52 \times 10^4 \pm 0.29 \times 10^4$	47.0	—	—	2.5
1.0% tapioca starch	200	$60.7 \pm 6.70$	180	$1.83 \times 10^4 \pm 0.08 \times 10^4$ *	34.0	—	—	7.2
2.5% tapioca starch	200	$28.6 \pm 2.10$	180	$0.79 \times 10^4 \pm 0.05 \times 10^4$ *	14.7	—	—	over 100
open system								
0.5% tapioca starch	200	$62.7 \pm 12.0$	120	$1.65 \times 10^4 \pm 0.31 \times 10^4$	—	30.7	65.3	—
1.0% tapioca starch	200	$51.2 \pm 11.0$	90	$1.25 \times 10^4 \pm 0.16 \times 10^4$	—	23.3	68.4	—
2.5% tapioca starch	200	$28.3 \pm 5.0$	90	$0.67 \times 10^4 \pm 0.05 \times 10^4$ *	—	12.5	85.4	—

The data represent the mean  $\pm$  S.E. ( $n = 3 - 6$ ).

\*: Significant difference compared with control ( $p < 0.05$ ).

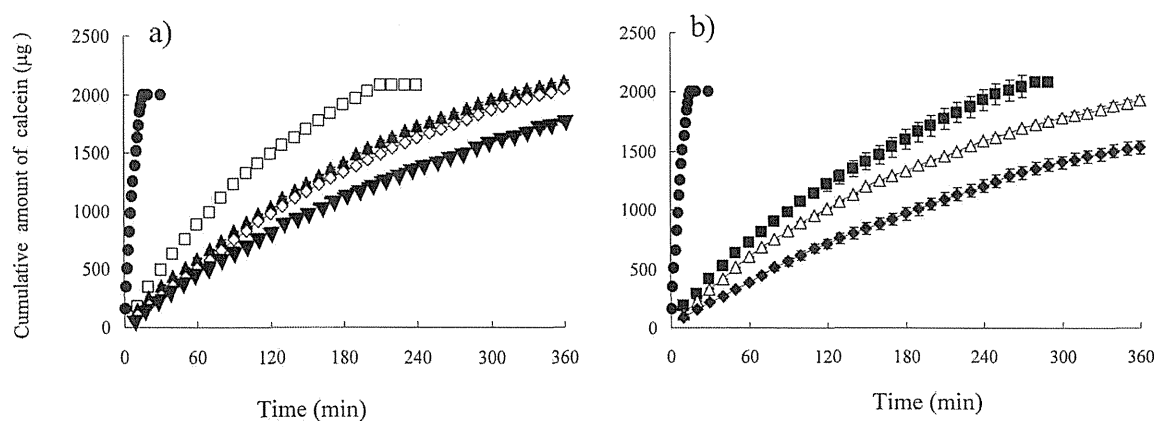


Fig. 4. Release Profile of Calcein from Starch Solution.

(a) ●: control, □: 1.0% potato starch, ▲: 2.5% potato starch, ◇: 5.0% potato starch, ▼: 7.5% potato starch. (b) ●: control, ■: 0.5% tapioca starch, △: 1.0% tapioca starch, ◆: 2.5% tapioca starch. The data represent the mean  $\pm$  S.E. ( $n = 3$ ).

溶液を鼻腔内に投与したとき、滴下した溶液が粘膜上を拡がることができず、鼻粘膜との接触面積（吸収表面積）が減少して吸収速度が減少したことよると考えられる。しかし、デンプン粘性溶液からの

カルセインの放出速度は、溶液の粘度に依存していることから、放出性もある程度カルセインの吸収に影響していると考えられた。

本研究は、デンプンを用いたゲル状製剤をモデル

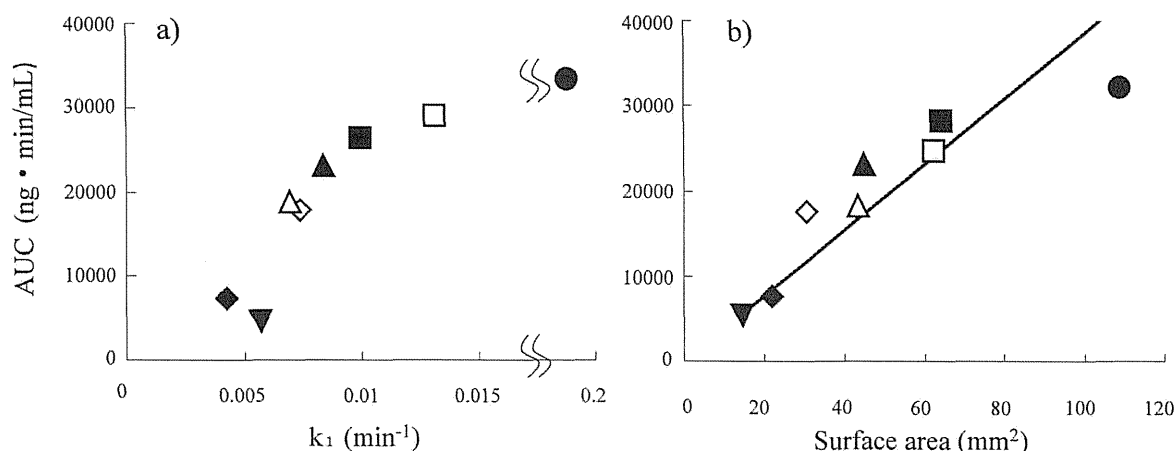


Fig. 5. Relationship between Release Rate Constant (a) and Surface Area (b), and AUC. ●: control, □: 1.0% potato starch, ▲: 2.5% potato starch, ◇: 5.0% potato starch, ▼: 7.5% potato starch, ■: 0.5% tapioca starch, △: 1.0% tapioca starch, ◆: 2.5% tapioca starch. The data represent the mean ( $n=3$ ). Surface area vs AUC ( $r^2=0.920$ ,  $p<0.002$ ).

システムとして評価したが、粘度の増加で付着効果が高まり滞留性が増大したものの、主に粘膜との接触面積が減少し、含有したカルセインのバイオアベイラビリティは低下することがわかった。鼻腔は経口投与後の生物学的利用率 (BA) の低い薬物、注射しかない薬物、素早い薬効 (rapid onset) を期待したい薬物等の候補投与ルートになる<sup>1~4)</sup>。このような薬物の場合、バイオアベイラビリティの低下は、製剤開発の上で、非常にマイナスとなる。偏頭痛治療薬のスマトリプタンの経鼻製剤が上市されている様に、素早い血中濃度の立ち上がりが大事な薬物にとっては、経鼻製剤は有用である<sup>19)</sup>。今回得られた結果から、デンプンのような材料を用いて経鼻薬物送達システムとするには、比表面積 (付着面積) が増大し、薬物放出速度と付着・滞留性の改善が期待される microparticulate system (パウダーシステム) を開発することが重要となろう。また、これらの薬物をゲル状製剤にしたい場合には、低粘性で付着効果の高い材料をスクリーニングすることが大切である。ペプチド薬物などの難吸収性薬物も同様のことが考えられるが、これらの薬物の製剤開発には、吸収促進剤は不可欠であり、付着材料と吸収促進剤の組合せに関する更なる検討が必要となろう。

以上、平井ら<sup>10)</sup>のラットを用いる実験系をベースに、閉鎖系と開放系から得た2種類の薬動学的パラメータを比較することで、カルセイン含有デンプン粘性溶液の付着・滞留効果とカルセインの吸収に対する効果を評価できることがわかった。従って、本

方法論は、両効果を同時に評価するうえで有用な手段になると考えられる。

#### 引用文献

- 1) S. Turker, E. Onur, Y. Ozer, Nasal route and drug delivery system, *Pharm. World Sci.*, **26**, 137-142 (2004).
- 2) 谷口彰敏, 大竹一男, 夏目秀視編, “経鼻吸収製剤の開発戦略と設計・評価方法”, 情報機構, 東京, 経皮・経鼻, 経肺吸収製剤の開発戦略, pp. 80-109 (2005).
- 3) 夏目秀視, 鼻粘膜からの薬物吸収性と製剤開発の可能性, *日鼻誌*, **43**, 50-51 (2004).
- 4) E. Marttin, G.M. Nicolas Schipper, J.C. Verhoef, F.W. Merkus, Nasal mucociliary clearance as a factor in nasal drug delivery, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **29**, 13-38 (1998).
- 5) M. Miyamoto, H. Natsume, I. Sato, K. Ohtake, M. Yamaguchi, D. Kobayashi, K. Sugibayashi, M. Yamashina, Y. Morimoto, Effects of poly-L-arginine on the nasal absorption of FITC-dextran of different molecular weights and recombinant human granulocyte colon-stimulating factor (rhG-CSF) in rats, *Int. J. Pharm.*, **226**, 127-138 (2001).
- 6) M. Miyamoto, H. Natsume, S. Iwata, K. Ohtake, M. Yamaguchi, D. Kobayashi, K. Sugibayashi, M. Yamashina, Y. Morimoto, Improved nasal absorption of drugs using poly-L-arginine effects of concentration and molecular weight of poly-L-arginine on the nasal absorption of fluorescein isothiocyanate-dextran in rats, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **52**, 21-30 (2001).
- 7) S.T. Charlton, S.S. Davis, L. Illum, Evaluation of effect of ephedrine on the transport of drugs from the nasal cavity to the systemic circulation and the central nervous system, *J. Drug Targeting*, **15**, 370-377 (2007).
- 8) N.V. Chemuturi, J.E. Haraldsson, T. Prisinzano, M. Donovan, Role of dopamine transporter (DAT)



- in dopamine transport across the nasal mucosa, *Life Sci.*, **79**, 1391–1398 (2006).
- 9) C.L. Graff, R. Zhao, G.M. Pollack, Pharmacokinetics of substrate uptake and distribution in murine brain after nasal instillation, *Pharm. Res.*, **22**, 235–244 (2005).
  - 10) S. Hirai, T. Yashiki, H. Mima, Effect of surfactants on the nasal absorption of insulin in rats, *Int. J. Pharm.*, **9**, 165–172 (1981).
  - 11) L.J. Whan, J.H. Park, J.R. Robinson, Bioadhesive-based dosage forms: The next generation, *J. Pharm. Sci.*, **89**, 850–866 (2000).
  - 12) E. Gavini, A.B. Hegge, G. Rassu, V. Sanna, C. Testa, G. Pirisino, J. Karlsen, P. Giunchedi, Nasal administration of carbamazepine using chitosan microspheres: *In vitro/in vivo* studies, *Int. J. Pharm.*, **307**, 9–15 (2006).
  - 13) L.P. Morath, Microspheres as nasal drug delivery systems, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **29**, 185–194 (1998).
  - 14) B. Jansson, H. Hagerstrom, N. Fransen, K. Edsman, E. Bjork, The influence of gellan gum on the transfer of fluorescein dextran across rat nasal epithelium *in vivo*, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **59**, 557–564 (2005).
  - 15) S.T. Charlton, N.S. Jones, S.S. Davis, L. Illum, Distribution and clearance of bioadhesive formulations from the olfactory region in man: Effect of polymer type and nasal delivery device, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **30**, 295–302 (2006).
  - 16) H. Natsume, S. Iwata, K. Ohtake, M. Miyamoto, M. Yamaguchi, K. Hosoya, D. Kobayashi, K. Sugibayashi, Y. Morimoto, Screening of cationic compounds as an absorption enhancer for nasal drug delivery, *Int. J. Pharm.*, **185**, 1–12 (1999).
  - 17) L. Illum, N.F. Farraj, S.S. Davis, Chitosan as a novel nasal delivery system for peptide drugs, *Pharm. Res.*, **11**, 1186–1189 (1994).
  - 18) H. Critchley, S.S. Davis, N.F. Farraj, L. Illum, Nasal absorption of desmopresin in rats and sheep: Effect of bioadhesive microsphere delivery system, *J. Pharm. Pharmacol.*, **46**, 651–656 (1994).
  - 19) C. Duquesnoy, J.P. Mamet, D. Sumner, E. Fuseau, Comparative clinical pharmacokinetics of single doses of sumatriptan following subcutaneous, oral, rectal and intranasal administration, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **6**, 99–104 (1998).